Ein Beitrag

zur

Kenntnis der sauren Reaktion des Muskels.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt

der hohen medizinischen Fakultät

der

kgl. bayr. Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

am 18. Juli 1891

von

Florentin Alexander Meyerhold
aus Sosnowice (Russ. Polen).

Erlangen, 1892.
Druck der Universitäts-Buchdruckerei von E. Th. Jacob.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät zu Erlangen.
Referent: Herr Professor Dr. Rosenthal.

Gewidmet

dem Andenken

meiner teuren Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535708_0184

Berzelius hat als Erster im Jahre 1807 die Beobachtung gemacht, dass das Muskelfleisch sauer reagiere. Er erklärte diese saure Reaktion durch den Gehalt des Fleisches an einer freien, nicht flüchtigen Säure, die er mit der von Scheele aus saurer Milch dargestellten Säure für identisch hielt. Scheele war durchaus nicht derselben Ansicht. Später jedoch gelang es Liebig nachzuweisen, dass Berzelius mit seiner Ansicht Recht hatte. Die weiteren Untersuchungen waren darauf gerichtet, die Natur der in den Muskeln enthaltenen Säure genauer zu studieren. Engelhardt, Heintz und Strecker waren es hauptsächlich, die sich damit beschäftigten und die auch einige Abweichungen der in den Muskeln gefundenen Fleischmilchsäure von der gewöhnlichen Milchsäure festgestellt haben. Scherer und Wyder gewannen dann noch eine Anzahl flüchtiger Säuren aus dem Fleische, und Lehmann und Siegmund fanden auch bei glatten Muskeln saure Reaktion. Unter den französischen Forschern erkannten Valenciennes und Frémy die saure Reaktion der Muskeln als nicht immer durch Milchsäure bedingt, sondern durch saures phosphorsaures Kalium. Bei allen diesen verschiedenen Anschauungen nahm man an, dass die ganze Menge der Säure, die sich aus den Muskeln gewinnen lässt, auch bereits im lebenden Körper darin enthalten sei. Die Chemiker setzten dies wenigstens als sicher voraus. Der erste aber, der diese Ansicht, die während eines halben Jahrhunderts geherrscht hatte, durch experimentelle Beobachtungen widerlegte, war Du Bois-Reymond. Er zeigte wenigstens, dass in dem lebenden Muskel für gewöhnlich die Gegenwart freier Säure nicht zu erweisen ist, dass ferner der bei weitem grösste Teil der Säure, welche die Chemiker in angeblich frischem Fleisch gefunden haben, erst zur Zeit des Absterbens darin frei wird, endlich, dass nur in dem Falle, wo dauernde

heftige Muskelanstrengung vorhergegangen ist, der lebende Muskel eine saure Reaktion besitzt[1]).

Du Bois-Reymond stellte nun Versuche an, die, wie er selbst angiebt, zunächst an Längs- und künstlichen Querschnitten gemacht wurden, um zu erfahren, ob diese eine verschiedene Reaktion darböten. Der künstliche frische Querschnitt eines nicht gereizten und nicht durch Arbeit ermüdeten Muskels zeigte zu Du Bois-Reymond's nicht geringem Erstaunen auf Lackmuspapier keine deutliche saure Reaktion. So standen sich nun zwei Ansichten schroff gegenüber. Einerseits behaupteten die Chemiker, der frische Muskel enthalte Milchsäure, andererseits fand Du Bois-Reymond bei frischen Muskeln keine deutliche saure Reaktion. Du Bois-Reymond vermutete nun, es könnten diese zwei grundverschiedenen Ansichten nur auf der verschiedenen Auffassung von der Frische der Muskeln beruhen, d. h. darauf, dass die Chemiker die Bezeichnung „frisch" in weiterem Sinne gebraucht hätten als er, der Physiologe. In der That liessen sich die Widersprüche hierauf zurückführen. Du Bois-Reymond bemerkte nämlich, dass erst beim Absterben des Muskels, gleichviel ob es schnell oder langsam geschehe, die Säure in ihm frei werde. Wenn Liebig mit feingehacktem Fleisch frisch getöteter Tiere Versuche anstellte, so war dies eben kein frisches Fleisch mehr im physiologischen Sinne. Im Gegenteil: gehacktes Fleisch, auch von Fröschen, wird meistens schon totenstarr sein. Bei der Prüfung der Reaktion der natürlichen, die Muskeln begrenzenden Flächen fand Du Bois-Reymond sogar, dass rotes Lackmuspapier nach längerem Verweilen auf dem Muskel öfters deutlich gebläut wurde. Ebenso verhielt sich der künstliche Längsschnitt. Der Umstand, sagt Du Bois-Reymond weiter, dass der frische Muskelquerschnitt auf blauem Lackmuspapier scheinbar eine deutliche rote Spur hinterlässt, mag manchen getäuscht haben, der, um sich von der augenblicklichen Reaktion des frischen Muskels zu überzeugen, die Prüfung nur auf diese Art vorgenommen hat, ohne zu ahnen, dass er auf rotem Lackmuspapier einen scheinbar ebenso entschiedenen blauen Fleck erhalten haben würde. An Winterfröschen neigt die Reaktion des frischen Muskelquerschnittes nach Du

1) Monatsberichte der Königl. Preuss. Akademie der Wissenschaften zu Berlin 1859. März 31.

Bois-Reymond mehr zum Alkalischen, und erst der Querschnitt, der längere Zeit liegt, zeigt saure Reaktion; aber ein in einiger Entfernung von dem ersten angelegter Querschnitt verhält sich noch neutral; völlig sauer reagiert erst der totenstarre Muskel. Man könnte nun bezweifeln, ob wirklich im Innern der frischen Muskelbündel noch gar keine freie Säure vorhanden sei, indem die Möglichkeit vorläge, dass dieselbe durch die alkalischen, aus dem Blute und den Lymphgefässen stammenden Flüssigkeiten hätte verdeckt werden können. Daher spritzte Du Bois-Reymond in die Gefässe eines Tieres eine neutrale Flüssigkeit, und da er beobachtete, dass auch ein solcher Muskel rotes Lackmuspapier bläuen kann, so sagte er, dass jetzt dem Schlusse, dass in frischen Muskeln gar keine durch die Reaktion auf Lackmus nachweisbare freie Säure vorhanden sei, nichts Erhebliches entgegenstünde. Zu seinen weiteren Versuchen nahm Du Bois-Reymond 6 Portionen frischer Froschmuskeln A, B, C, D, E, F, und diese wurden 5 Minuten lang in Wasser von beziehentlich 45, 50, 55, 60, 75 und 100 Grad getaucht. Nach Verlauf von 5 Minuten mussten durch die Erwärmung in Wasser sämtliche Muskeln totenstarr sein, die den höheren Temperaturen ausgesetzten sogar doppelt starr wegen der Gerinnung nicht nur des Muskelfaserstoffes, sondern auch des Muskeleiweisses. Du Bois-Reymond glaubte nun, dass, wenn er die Querschnitte dieser 6 Muskeln untersuchen würde, alle sechs sauer reagieren, d. h. blaues Lackmuspapier röten würden. Als er jedoch die Reaktion der Querschnitte untersuchte, fand er ein Ergebnis, das er nicht erwartet: „Muskel A reagierte entschieden sauer, B und C reagierten unzweifelhaft mehr neutral, D reagierte durchaus neutral, E neigte zum Alkalischen, F zeigte deutlich alkalische Reaktion. Du Bois-Reymond behauptet ferner, dass er Froschmuskeln, die einzeln der Siedehitze ausgesetzt worden waren, nie hat sauer werden sehen, wenn er dieselben bei mittlerer Temperatur der Fäulnis überliess. Um so mehr befremdete es ihn, dass Liebig gefunden haben wollte, dass die Fleischflüssigkeiten der verschiedenen Tiere, obschon sie der Siedehitze ausgesetzt waren, sauer reagierten. Es klärte sich aber auch dieser Widerspruch der Ansichten beider Forscher auf, als Du Bois-Reymond beim Schlächter gekauftes Rindfleisch, welches eine sehr stark saure Reaktion besass, sodann freiwillig erstarrte und sauer gewordene Froschmuskeln, endlich sogar Froschmuskeln, die

durch 5 Minuten langen Aufenthalt in 45 grädigem Wasser sauer gemacht worden waren, eine Viertelstunde lang kochte und dieselben nach wie vor sauer blieben. Es war also klar, dass, wenn die Muskeln sauer geworden sind, sie durch die Siedehitze nicht mehr ihre saure Reaktion einbüssen, und daraus folgt, sagt Du Bois-Reymond, dass die Muskeln in der obigen Versuchsreihe C—F niemals sauer gewesen seien. Dass die neutrale oder alkalische Reaktion des Muskelquerschnittes nicht etwa von einer Sättigung beziehentlich Uebersättigung der in den Muskeln fertig gebildet enthaltenen Säure durch das Alkali des Blutes herrührte, zeigte Du Bois-Reymond an Froschmuskeln, ferner dadurch, dass er in die Bauchaorta eines lebend geöffneten Kaninchens blutwarmes Zuckerwasser spritzte, bis dasselbe aus der unteren Hohlvene farblos abfloss, wobei die Reaktion der blutleeren Muskeln von derjenigen mit Blut überfüllter Muskeln desselben Tieres nicht zu unterscheiden war. Du Bois-Reymond kommt schliesslich zu der Ansicht, dass es sich bei der Säurebildung im Muskel um einen Gährungsvorgang handle, da die Säuerung des Muskels durch Temperaturerhöhung innerhalb gewisser Grenzen beschleunigt, durch Temperaturerniedriguug hingegen gehemmt, durch Siedehitze und Alkohol dagegen verhindert werde.

Später studierte die Verhältnisse des Muskels inbezug auf Säurebildung Heidenhain[1]). Er geht von den oben erwähnten Versuchen Du Bois-Reymonds aus und sagt, dass der frische Muskel, da er rotes Lackmuspapier bläut und blaues rötet, in gewöhnlichem chemischen Sinne weder sauer noch alkalisch genannt werden kann. Aber auch die Bezeichnung neutral sei nicht ganz zutreffend, denn die im gewöhnlichen Sinne als neutral benannten Stoffe wie destilliertes Wasser, Chlornatriumlösung und so fort veränderten ja die Farbe des Lackmuspapiers nicht. Er bezeichnet daher das doppelseitige Verhalten des Muskels mit dem Ausdrucke der amphichromatischen Reaktion im Gegensatz zu dem monochromatischen Verhalten wirklicher Säuren und Alkalien. Im übrigen wiederholte Heidenhain die Versuche Du Bois-Reymonds mit Hilfe von Lackmustinktur, indem er sich aus dem einen Wadenmuskel eines Frosches einen Auszug mit 6 ccm

1) R. Heidenhain, Mechanische Leistung und Stoffumsatz bei der Muskelthätigkeit. S. 153 ff. 1864.

der blauen Tinktur, aus dem anderen einen Auszug mit demselben Volumen einer durch geringen Säurezusatz eben geröteten Tinktur bereitete. Dabei fand er, dass der erstere Muskel die blaue Färbung eher kräftiger werden liess, während der zweite die rote Färbung mehr nach dem Blau zu veränderte. Da also die Farbenänderung der roten Tinktur immer stärker ausgeprägt erschien als die der blauen, so findet Heidenhain die Angabe Du Bois-Reymonds, dass die Reaktion des ruhenden Muskels mehr zum Alkalischen hinneige, vollkommen zutreffend. — In der Folgezeit hat sich Johannes Ranke[1]) mit der Frage über die Säurebildung im Muskel beschäftigt, und zwar hauptsächlich über die Säurebildung des totenstarren Muskels. Die Methode der Säurebestimmung war, wie er in seinem Werke: „Tetanus" angiebt, folgende: Die blutfreien, gewogenen Muskeln, welche auf ihre Säuremengen geprüft werden sollten, wurden, nachdem sie totenstarr gemacht worden waren, in einem Porzellanmörser zerrieben, und zwar unter Zusatz einer gemessenen Menge von feinem Quarzsand. Die Säuremenge wurde mit höchst verdünnter Natronlauge in dem dünnen Muskelbrei selbst, der einige Stunden ruhig gestanden hatte, titriert. Als Indikator diente immer die gleiche sehr geringe Menge Lackmustinktur. Der Uebergang von Rot in Blau, welcher als Grenzpunkt des Titrierverfahrens galt, d. h. der Uebergang zur alkalischen Reaktion wurde gleichzeitig noch durch tropfenweise aus der Flüssigkeit herausgenommene Proben auf sehr empfindlichem Curcumapapier kontroliert. Die angewendete Natronlauge war sehr verdünnt: 1 ccm NaOH entsprach 0,011 gr H_2SO_4, und die Säuremenge des Muskels wurde auf Schwefelsäure in Prozenten berechnet, um vergleichbare Werte zu erhalten. Das Resultat war folgendes: „Der Muskel besitzt nach seiner Entfernung aus dem Blutkreislauf ein unveränderliches Säurebildungsmaximum." Ferner: „Die Säurebildung im totenstarr werdenden Muskel ist eine Funktion der Zeit: in gleichen Zeiten und unter sonst gleichen Bedingungen bilden die gleichnamigen Muskeln desselben Tieres gleiche Mengen Säure."

Späterhin wandte man sich der Beantwortung der Frage zu, aus welchen Substanzen die im Muskel vorhandene Milchsäure

---

1) Tetanus, eine physiologische Studie von Dr. Johannes Ranke. Leipzig 1865. S. 142 ff.

gebildet würde, und ob sie sich von der gewöhnlichen Milchsäure unterschiede. Die nahe Beziehung der Milchsäure zu den Kohlenhydraten brachte es mit sich, dass von jeher die letzteren als die Muttersubstanzen der ersteren angesehen wurden. So wollte Nasse gesehen haben, dass der hohe Säuregrad der Kaninchenmuskulatur mit hohem Glykogengehalt zusammenfällt und dass die glykogenfreien Muskeln hungernder Tiere nicht sauer werden. Zu Gunsten der Annahme, dass die Kohlenhydrate, und zwar in erster Linie das Glykogen als Muttersubstanz der Milchsäure anzusehen sei, wurden manche Erscheinungen im starren Muskel angeführt. Der vermeintliche Schwund der Kohlenhydrate aus dem Muskel während der Starre und das gleichzeitige Auftreten der Milchsäure in demselben sollten im kausalen Zusammenhang zu einander stehen, indem während der Starre das Glykogen sich zu Milchsäure umwandle, weshalb auch die glykogenreichsten Muskeln, wie z. B. die Rückenmuskulatur des Kaninchens, die grösste Menge der Säure bei der Starre liefert. Nun hat aber R. Böhm[1]) gezeigt, dass Starre allein keine Abnahme des Muskelglykogens zur Folge hat, dass ferner, wo sich Prozesse der Fäulnis und Starre kombinieren, der Glykogengehalt zwar merklich abnimmt, ohne indessen völlig zu verschwinden. Er behauptet also, dass beim Fernhalten der Fäulnis (in der Kälte) der Prozess der Starre kein Glykogen konsumiert, auch wenn sich eine Zunahme des Milchsäuregehaltes konstatieren lässt, dass also folgerichtig das Glykogen nicht das Material für die Milchsäure sein kann. Anderer Ansicht ist, wie wir weiter unten sehen werden, Moritz Werther[2]). Letzterer hat in seiner Arbeit zunächst den Beweis geführt, dass im totenstarren wie im thätigen Muskel dieselbe Säure, nämlich Milchsäure, und zwar eine Modifikation der Aethylidenmilchsäure, welche man als Para- oder Fleischmilchsäure bezeichnet, gebildet wird, und somit die Untersuchungen Spiro's[3]) bestätigt, die Ansichten Asta-

---

1) R. Böhm, Ueber das Verhalten des Glykogens und der Milchsäure im Muskelfleisch mit besonderer Berücksichtigung der Totenstarre. — Archiv für die gesamte Physiologie Bd. XXIII. 1880.

2) Moritz Werther, Ueber Milchsäurebildung und Glykogenverbrauch im quergestreiften Muskel. Arch. für Physiologie von Pflüger. Bd. 46. 1890.

3) Spiro, Beiträge zur Physiologie der Milchsäure. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. I, S. 111.

schewsky's[1]) und Warren's[2]) dagegen widerlegt Moritz Werther behauptet, der oben erwähnten Ansicht Böhm's entgegen, eine Abnahme des Muskelglykogens bei der Totenstarre auch bei absoluter Ausschliessung der Fäulnis und sieht somit das Glykogen als Muttersubstanz der Fleischmilchsäure an. Indessen sprechen die weiteren Angaben R. Böhm's wohl mit Bestimmtheit gegen Werther's Ansicht. Böhm zeigt nämlich, dass die bei der Starre entstehende Milchsäuremenge in gar keinem Verhältnis stehe zu der vorhandenen Glykogenmenge. Das Fleisch einer Hungerkatze, welches im frischen Zustande nur 0,036 % Glykogen aufwies, enthielt im starren Zustande 0,56% Milchsäure, genau soviel wie das einer anderen gut gefütterten Katze, in welchem 20 Mal so viel Glykogen, nämlich 0,71% enthalten war. Auf Grund dieser Resultate stellt R. Böhm das Entstehen der Milchsäure im starren Muskel aus Glykogen entschieden in Abrede und hält als wahrscheinliche Quelle für dieselbe die Eiweisskörper, eine Ansicht, die schon 1867 von Hermann ausgesprochen und die auch von Lehmann und Schlossberger vertreten wurde. — Auch O. Nasse[3]) neigt zu der gleichen Ansicht, namentlich da H. Meyer im Blute mit Arsen vergifteter Hunde, womit bedeutender Eiweisszerfall im Organismus verbunden sei, Milchsäure in vermehrter Menge nachgewiesen habe.

In neuester Zeit stellte Marcuse[4]) diesbezügliche Untersuchungen an und gelangte zu der Vorstellung, dass im Muskel ein bisher noch nicht dargestellter, den Hyalogenen vergleichbarer Eiweisskörper existiere, aus dem sich sowohl bei der Thätigkeit wie bei der Totenstarre, sei es direkt oder mit intermediärer Bildung von Traubenzucker, Milchsäure bildet und zweitens, dass bei der Muskelthätigkeit Glykogen zersetzt wird.

In der allerletzten Zeit haben sich Blome[5]) und Lands-

1) Astaschewsky, Ueber die Säurebildung und den Milchsäuregehalt der Muskeln. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. IV, S. 397.

2) Warren, Ueber den Einfluss des Tetanus der Muskeln auf die in ihm enthaltenen Säuren. Pflügers Archiv f. Physiologie. Bd. 24, S. 391 1881.

3) Zur Anatomie und Physiologie der quergestreiften Muskeln. Leipzig 1882. S. 94.

4) W. Marcuse, Ueber die Bildung von Milchsäure bei der Thätigkeit des Muskels und ihr weiteres Schicksal im Organismus. Archiv für Physiologie von Pflüger. Bd. 39. 1886. S. 436.

5) R. Blome, Beiträge zur Chemie des quergestreiften Muskels. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Bd. XXVIII. 1891. S. 113 ff.

berger mit den Fragen über die Milchsäurebildung während verschiedener Zustände der Muskeln beschäftigt. Ersterer kommt in seiner Abhandlung zu dem Schlusse, dass bei der Starre keine Bildung von Säure stattfindet, dass vielmehr der frische Muskel genau die gleiche Menge freier Säure aufweist als der starre. Der Gang seiner Versuche ist kurz folgender: Zunächst bestimmt er an Kaninchen- und Katzenmuskeln den N-Gehalt, und zwar nach der Kjeldahl'schen Methode. Dabei ging er von dem Gedanken aus, dass die Milchsäure im Muskel durch Spaltung eines N-haltigen komplexen Moleküles entstehe und dass man aus der Menge von N auf die Milchsäuremenge schliessen könne. Seinen Angaben nach würde der N-Gehalt, in Prozenten angegeben, zwischen 0,458 und 0,49 schwanken, also innerhalb geringer Grenzen, und zwar sowohl bei frischen wie bei starren Muskeln. Er erwartete also, dass die Säuremenge auch nur höchstens innerhalb dieser Grenzen schwanken werde und dass er für die Milchsäuremenge bei starren und frischen Muskeln dieselben Werte finden würde. Und in der That ergaben seine Milchsäurebestimmungen bei frischen und starren Muskeln die gleichen Werte. Ein Fehler scheint auch nicht untergelaufen zu sein. Indessen sind die Schlüsse, die er aus seinen Versuchen zieht, völlig haltlos. Zunächst untersucht Blome zwei Arten von Muskeln, aber nicht, wie er sagt, frische und starre. Wenigstens sind die ersteren nicht mehr im physiologischen Sinne frisch; denn gehacktes Fleisch ist gereizt und totenstarr, da jede mit einer gewissen Plötzlichkeit erfolgende mechanische Läsion erregend wirkt und Zuckungen hervorruft. Blome hat also gereizte und starre Muskeln untersucht, und von diesen Zuständen der Muskeln ist längst bekannt, dass sie Säure produzieren; dass aber die Säurewerte in der ganzen Versuchsreihe sich gleich bleiben, ist Zufall; jeden falls ist der Schluss, dass frische Muskeln genau die gleiche Menge freier Säure aufweisen wie starre, haltlos. Ebenso ist sein weiterer Schluss, dass chemische Vorgänge und Veränderungen bei der Totenstarre, abgesehen von der Myosingerinnung, wohl überhaupt in erheblichem Masse nicht stattzufinden brauchen, nicht begründet.

Die letzte Arbeit war die von Landsberger[1]), welche im

1) R. Landsberger, Ueber den Nachweis der sauren Reaktion des Muskels mit Hülfe von Phenolphtalein. Pflüger's Arch. f. Physiologie. Bd. L, S. 339 ff.

Sommer 1890 im hiesigen physiologischen Institut ausgeführt wurde. Landsberger fand, dass die Muskeln unter gleichen Verhältnissen und in gleichen Zeiten die gleiche Menge Säure produzieren. Zweitens: Die Säuremenge, die der Muskel von dem Augenblick an, wo er dem Körper entnommen ist, bis zu seiner Fäulnis bildet, scheint eine ganz bestimmte zu sein. Drittens: Diese Säuremenge wird schneller produziert, wenn der Muskel in einer schwach alkalischen Flüssigkeit liegt, sodass das Säuremaximum schon vor dem Eintritt der Fäulnis erreicht ist. Viertens: Kochsalzlösung (Durchspülungsversuch) spült aus dem Muskel Stoffe aus, welche nachträglich sauer werden. Es sei hiernach anzunehmen, dass auch das Blut solche Stoffe ausspüle. Es könnte aber wohl sein, dass im lebenden ruhenden Muskel immer etwas Säure gebildet und durch das Blut fortgeschwemmt werde. Dass dies im thätigen Muskel geschieht, ist unzweifelhaft; kann die gebildete Säure nicht vollständig fortgespült werden, so wird der Muskel selbst sauer.

An die letzterwähnte Arbeit knüpfen die in Folgendem mitzuteilenden Versuche an. Ich bin bei denselben darauf ausgegangen, über einige Punkte, welche in der Arbeit von Landsberger nicht berührt oder unentschieden geblieben sind, Aufklärung zu gewinnen.

Zunächst kam es mir darauf an, die Frage, ob im lebenden ruhenden Muskel sauer reagierende Substanzen in nachweisbarer Menge vorhanden seien oder nicht, zu erledigen. Die Versuche, mit Froschmuskulatur angestellt, waren zum Teil eine Wiederholung der Versuche Du Bois-Reymond's, die derselbe an Querschnitten und Längsschnitten gemacht, zum Teil waren es neue Versuche. Ehe ich jedoch die diesbezüglichen Untersuchungen selbst anführe, will ich bemerken, dass ich die Bestimmung des Säuregrades durch Titration vornahm. Als Indikator benutzte ich Phenolphtalein (1 gr in 600 ccm über Kalk destillierten 96% Alkohols + 400 ccm destillierten Wassers aufgelöst). Zur Neutralisierung der sauer reagierenden Substanzen diente mir $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge. An Stelle des Lackmuspapiers benutzte ich jedes Mal frisch bereitetes Phenolphtaleinpapier. Es war mir von Bedeutung, den Muskel womöglich in einem Zustande zu untersuchen, der demjenigen im Leben während der Ruhe möglichst genau entspricht. Nachdem ich nach Dekapitation eines Frosches die Haut vom Ober- und Unterschenkel so schnell als thunlich

abpräpariert hatte, legte ich den Muskel mit dem Knochen, um ihn durch das Abschneiden mit der Schere nicht zu reizen, in 0,6% Kochsalzlösung, fügte einige Tropfen Phenolphtaleinlösung hinzu und titrierte mit $^1/_{10}$ Natronlauge bis zur Rotfärbung. 1 Tropfen Natronlauge (etwa gleich 0,05 ccm, entsprechend 0,00045 gr Milchsäure) genügte, um eine intensive Rotfärbung hervorzurufen. Ein solcher Versuch bewies indessen noch nichts und liess den Schluss, dass im ruhenden frischen Muskel so gut wie gar keine Säure vorhanden sei, nicht zu; denn es ist ja nur der Säuregehalt der den Muskel umgebenden Kochsalzlösung bestimmt worden, ohne dass man hierbei auch nur den geringsten Aufschluss darüber erhalten hätte, wie sich der Muskel in seinem Inneren bezüglich seiner Reaktion verhält. Um nun den Muskel auch in seinem Inneren auf den Säuregehalt prüfen zu können, musste derselbe zerschnitten oder zerrieben werden; da dies jedoch Manipulationen sind, die den Muskel stets in hohem Grade reizen und deshalb sauer machen, suchte ich den frischen Muskel in einem dem ruhenden entsprechenden Zustande zu fixieren, und zwar dadurch, dass ich ihn in siedendes Wasser warf. Ich legte daher die Muskulatur der hinteren Extremität eines mittelgrossen Frosches, nachdem ich die Haut abpräpariert, den Knochen mit wenigen Scherenschnitten losgetrennt und den Muskel gewogen hatte, auf 15 Minuten in siedendes Wasser. Die Loslösung vom Knochen musste ich deshalb vornehmen, weil ich vermeiden wollte, dass durch das siedende Wasser etwa aus Periost und Knochen saure Substanzen mit extrahiert würden, welche die Säurebestimmung im Muskel beeinflussen mussten. Nachdem der Muskel 15 Minuten der Siedehitze ausgesetzt und dadurch in seinem Zustande fixiert war, wurde er in einer Reibschale völlig zerrieben, was leicht ausführbar war. Sodann fügte ich einige Tropfen Phenolphtaleinlösung hinzu und titrierte mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge bis zur Rotfärbung. Dabei verbrauchte ich 1,3 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge. Da nun der Muskel (Ober- und Unterschenkelmuskulatur eines Frosches) 3 gr wog, so hätte 1 gr Muskel 1,3 : 3 = 0,433 ccm Natronlauge gebraucht; 1 ccm der $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge entspricht aber 0,009 gr Milchsäure; es hätte mithin 1 gr Muskel, wenn wir die saure Reaktion allein auf Milchsäure beziehen, 0,433 × 0,009 = 0,00389 gr Milchsäure produziert oder 100 gr Muskel 0,389 gr Milchsäure, also eine gut messbare Menge. Würde eine gleiche Menge Säure wie bei dem

ersten Versuch gefunden worden sein oder eine nur um ein geringes grössere, so hätte man deren Auftreten auf die unvermeidliche Reizung bei der Lostrennung des Muskels zurückführen dürfen und wäre wohl zu dem Schlusse berechtigt gewesen, dass im ruhenden Muskel keine sauer reagierenden Substanzen vorhanden seien. Da aber ein solch' in siedendem Wasser fixierter Muskel eine ziemlich erhebliche Säuremenge zeigt, so muss man annehmen, dass entweder das Erhitzen in siedendem Wasser die Säurebildung im Muskel befördert, also ähnlich wirkt wie die Thätigkeit des Muskels, die Starre und elektrische Reizung, oder dass im frischen ruhenden Muskel immer etwas Säure gebildet wird. Im letzteren Falle wäre weiter anzunehmen, dass die in jedem Zeitabschnitt in einem Muskel des lebenden Körpers gebildete Säure sogleich durch das alkalische Blut neutralisiert und fortgeschwemmt wird.

Die folgenden Versuche stellte ich an Querschnitten von Froschmuskeln an und benutzte dabei sowohl Lackmuspapier wie stets frisch bereitetes Phenolphtaleinpapier. Das letztere habe ich in folgender Weise hergestellt: Farbloses Phenolphtaleinpapier, indem ich feines Fliesspapier durch eine 60% säurefreie alkoholische Lösung, welche 1‰ Phenolphtalein enthielt, hindurchzog, und schwach rot gefärbtes Phenolphtaleinpapier, indem ich das Fliesspapier in eine mit Alkali eben rot gefärbte alkoholische Phenolphtaleinlösung tauchte. Bei letzterem Verfahren hielt das Fliesspapier den in der alkalischen Flüssigkeit gelösten Farbstoff sehr schlecht zurück und schon während des Trocknens verschwand die Rötung vollständig, wahrscheinlich infolge des CO_2-Gehaltes der Luft. Besser haftete der Farbstoff, wenn in farblose, d. h. neutrale Phenolphtaleinlösung getauchte und getrocknete Papierstreifen durch eine äusserst schwach alkalische Flüssigkeit gezogen wurden. Du Bois-Reymond's Versuche zeigen, dass der frische ruhende Muskel auf Lackmuspapier neutral bis alkalisch reagiert, und in der That findet man, wenn man diese Versuche wiederholt, seine Angaben völlig bestätigt. Wenn man aber an Stelle des Lackmuspapiers frisch bereitetes Phenolphtaleinpapier anwendet, so erhält man andere Resultate. Nach Dekapitation eines mittelgrossen Frosches und Abpräparieren der Haut vom Ober- und Unterschenkel betupfte ich das noch feuchte Phenolphtaleinpapier mit einer Querschnittfläche der Ober- und Unter-

schenkelmuskulatur, und dabei zeigte es sich, dass dieser Muskelquerschnitt das weisse Phenolphtaleinpapier unverändert liess, während er das rote sichtlich entfärbte, also sauer sein musste, eine Reaktion, die, mit Lackmus wiederholt, selbst dann noch nicht zu sehen war, wenn der Muskel kurze Zeit an der Luft gelegen hatte. Trotzdem beweisen meine Versuche nicht zwingend, dass der ruhende lebende Muskel sauer reagierende Substanzen enthält, sie machen es nur wahrscheinlicher, wie wir es schon bei den zwei ersten Versuchen sahen. Denn streng genommen ist ja der oben untersuchte Muskel garnicht im ruhenden Zustande gewesen. Man beachte nur, wie sehr ein Frosch sich anstrengt zu entwischen, wenn man ihn aus dem Behälter herausnimmt, um ihn zum Versuche vorzubereiten! Es kommt dabei zu einem Kraftaufwand und einer Spannung der Muskeln, die er sonst selten genötigt ist zu machen: abgesehen davon wird der Muskel durch die Dekapitation in Mitleidenschaft gezogen. — Trennt man nach Dekapitation eines Frosches dessen hintere Extremität vom Rumpfe los, ohne die Haut abzupräparieren und wirft Ober- und Unterschenkel in siedendes Wasser, so findet man, dass auch ein solch' fixierter Muskel auf dem Querschnitt saure Reaktion bei Anwendung von Phenolphtaleinpapier zeigt. Indessen auch ein so behandelter Muskel lässt nur mit Wahrscheinlichkeit vermuten, dass der ruhende Muskel eine Spur von Säure enthält. Der letzte Querschnittversuch wäre mit denen, die Du Bois-Reymond angestellt hat, zu vergleichen. — Du Bois-Reymond hat, wie schon in der Einleitung dieser Arbeit erwähnt ist, 6 Muskelportionen 5 Minuten lang in Wasser von beziehentlich 45, 50, 55, 60, 75 und 100 Grad getaucht. Muskel A reagierte entschieden sauer, B und C reagierten unzweifelhaft mehr neutral, D reagierte durchaus neutral, E neigte zum Alkalischen und F zeigte auf Lackmuspapier deutlisch alkalische Reaktion. Er sagte also, dass Froschmuskeln, die der Siedehitze ausgesetzt waren, nie sauer werden. Und in der That ist dies der Fall, wenn man mit Lackmuspapier auf Säure prüft. Phenolphtaleinpapier zeigt auch bei so behandelten Muskeln saure Reaktion, wie wir schon oben gesehen haben.

Die weiteren Versuche stellte ich an, um der Frage, welchen Einfluss gewisse Faktoren, vor allem höhere Temperaturen auf die Entwicklung der sauren Reaktion im absterbenden Muskel

haben, näher zu treten; ich hoffte hiermit zugleich auch zu einigen Schlüssen über die Muttersubstanz der Muskelsäure zu gelangen. Ich ging dabei von folgenden Erwägungen aus. Jeder Muskel enthält, abgesehen von sauer reagierenden primären Alkaliphosphaten, eine gewisse Menge einer Substanz, aus welcher sich eine Säure, und zwar Milchsäure, abspalten kann. Es kam nun darauf an, zu beobachten, ob nach einer gewissen Zeit z. B. ein in 45grädiges und ein in 100grädiges Wasser geworfener Muskel, ferner ein frischer und ein starrer in Summa ganz die gleiche Menge Säure produzieren würden, wenngleich in ihnen anfangs infolge der verschiedenen Zustände, in denen sich die einzelnen Muskeln befanden, nicht gleich viel Säure enthalten sein mochte. Ehe ich die diesbezüglichen Versuche anführe, will ich erwähnen, dass ich die Säurebestimmung, wie bei den ersten Versuchen, durch Titration mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge vornahm, und dass die Säurebildung während eines Zeitraumes von mehreren Wochen verfolgt und quantativ ausgewertet wurde. Es musste hierbei, wie schon oben erwähnt, die Anzahl der zur Neutralisation verbrauchten Kubikzentimeter Natronlauge, wenn die Resultate auf Milchsäure bezogen werden sollten, mit 0,009 multipliziert werden, da 1 ccm der $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge 0,009 gr Milchsäure entspricht. Ich nahm von den beiden hinteren Extremitäten eines Frosches die Muskulatur und teilte sie in 2 Portionen, von denen die eine in 45grädiges, die andere in 100grädiges Wasser geworfen wurde und daselbst 5 Minuten verblieb. Sodann wurden beide Portionen besonders mit Phenolphtalein versetzt und bis zur Rotfärbung titriert, um die in der den Muskel umgebenden Flüssigkeit befindliche Säure fortzuschaffen. Die erste im Wasser von 45 Grad liegende Portion brauchte, auf 1 gr Muskel bezogen, 0,333 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge (0,0029 gr Milchsäure), die andere Portion dagegen 0,384 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge auf dieselbe Muskelmenge. Sodann wurden beide Portionen zerrieben, wodurch die Säure aus dem Muskel austrat, und jetzt ergab die Titration: die erste Portion brauchte auf 1 gr Muskel 0,96 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge, während die zweite Portion 0,461 ccm derselben Lauge bedurfte. Addiert man die vor und nach dem Zerreiben für jede Portion zur Neutralisation der Säure notwendige Menge von Natronlauge, so brauchte die erste Portion auf 1 gr Muskel bezogen 1,299 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge (= 0,0117 gr Milch-

säure) uud die zweite Portion 0,854 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge (= 0,0076 gr Milchsäure). Daraus ist also eine Begünstigung der Säurebildung in dem auf 45 Grad erwärmten Muskel ersichtlich. Verfolgt man nun die beiden zerriebenen Portionen noch weiter bezüglich ihrer Säurebildung, so findet man, dass noch recht lange — 3—4 Wochen lang, wenn die Zimmertemperatur die Fäulnis nicht befördert — von den zerriebenen Muskeln Säure produziert wird. Zu bemerken ist, dass die Versuche im Winter angestellt wurden. Die Muskeln waren während der Nacht meist einer Temperatur von 0° und darunter ausgesetzt, am Tage herrschte in dem Zimmer, in welchem die Versuche angestellt wurden, eine Temperatur von 10—12°, und zwar auch nur kurze Zeit, ein Umstand, durch den die Fäulnis auf ein Minimum herabgesetzt wurde. Zweifellos aber geben nicht allein die ganz klein zerriebenen Muskelelemente nach und nach während der ganzen Versuchszeit die Säure ab, vielmehr sind gleich im Beginn des Versuches durch die Erwärmung und Zerreibung des Muskels aus demselben Stoffe in die ihn umgebende Flüssigkeit übergegangen, die in dieser allmählig mehr und mehr Säure abspalten. Aus der weiter unten befindlichen Tabelle ist ferner ersichtlich, wie sich im Laufe der Zeit die Säurebildung des in 100° warmes Wasser geworfenen Muskels erhöht, und wenn dieser auch bezüglich des Säurequantums in den ersten beiden Wochen hinter dem mit 45 Grad warmen Wasser behandelten Muskels zurücksteht, so findet man, dass nach 4 Wochen beide Portionen gleiche Mengen von $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge zur Neutralisation gebraucht haben. Bevor ich die Tabelle, aus welcher die oben erwähnten Resultate ersichtlich sind, anführe, muss ich erwähnen, dass ich während der Beobachtungsdauer es versäumte, von Zeit zu Zeit frisches Phenolphtalein hinzuzufügen. Ich holte es aber, als ich die Versuche abschloss, am Ende nach und fand, dass ich bei beiden Versuchen im Laufe der Wochen zu viel Natronlauge zugesetzt hatte; denn die nur schwach rot gefärbte den Muskel umgebende Flüssigkeit färbte sich bei Zusatz von einigen Tropfen Phenolphtaleinlösung intensiv rot. Es musste sich also das im Beginn der Versuche hinzugefügte Phenolphtalein allmählich zersetzt haben. Da diese intensive Rotfärbung auch an den folgenden Tagen sich gleich blieb, so konnte ich annehmen, dass die Säurebildung aufgehört habe, und deshalb titrierte ich mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure bis zur

Entfärbung zurück. Zog ich die zur Entfärbung gebrauchten ccm Salzsäure, gleichfalls auf 1 gr Muskel bezogen, von den im Laufe der ganzen Beobachtungszeit gebrauchten ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge ab, so ergab sich für beide Versuche, wie oben erwähnt, ein gleicher Verbrauch an $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge.

Tabelle I.

	3 gr Froschmuskeln 5 Minuten in Wasser von 45° erwärmt	2,6 gr Froschmuskeln 5 Minuten in Wasser von 100° erhitzt
	1 gr Muskel erforderte zur Neutralisation	
Vor dem Zerreiben	0,333 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH	0,384 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH
Nach dem Zerreiben	0,966 ccm „ „ „	0,461 ccm „ „ „
Summa	1,299 ccm „ „ „	0,845 ccm „ „ „
	0,01169 gr Milchsäure entsprechend.	0,007605 gr Milchsäure entsprechend.
I. Woche	4,6 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH	1,73 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH
II. Woche	8,96 ccm „ „ „	5,74 ccm „ „ „
III. Woche	5,66 ccm „ „ „	7,19 ccm „ „ „
IV. Woche	4,33 ccm „ „ „	5,76 ccm „ „ „
Summa	23,55 ccm „ „ „	20,42 ccm „ „ „
Zurücktitration	5,06 ccm $^1/_{10}$ Norm. HCL	2,03 ccm $^1/_{10}$ Norm. HCL
	18,49 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH	18,39 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH
	0,16641 gr Milchsäure entsprechend [1]).	0,16551 gr Milchsäure entsprechend [1]).

Zu gleichen Resultaten, wie bei diesen zwei eben angeführten Versuchen, kam ich, als ich einen totenstaren Muskel und einen, bei dem die Totenstarre bereits gelöst war, auf ihre Säurebildung untersuchte. Aus der folgenden Tabelle ist dies ersichtlich.

1) Die Menge der verbrauchten $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge ist auf Fleischmilchsäure umgerechnet worden. Damit soll keineswegs angedeutet sein, dass das Alkali nur freie Milchsäure und vielleicht noch irgendwelche andere Säuren neutralisiert habe. Ein Teil des NaOH entfällt auf sauer reagierende Salze. Inwieweit die atmosphärische CO_2, welche von den untersuchten Muskelportionen nicht fern gehalten wurde, die Bildung primärer Phosphate begünstigt habe, lässt sich nicht sagen.

Tabelle II.

	4,5 gr totenstarre Froschmuskeln in destilliertes Wasser gebracht und titriert	3,25 gr Froschmuskeln, deren Starre bereits gelöst war, in destill. Wasser gebracht und titriert
	1 gr Muskel erforderte zur Neutralisation	
I. Woche	4,613 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH	3,623 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH
II. Woche	3,133 ccm „ „ „	3,200 ccm „ „ „
III. Woche	7,311 ccm „ „ „	8,338 ccm „ „ „
Summa	15,057 ccm „ „ „ 0,135513 gr Milchsäure entsprechend.	15,161 ccm „ „ „ 0,136449 gr Milchsäure entsprechend.

Diese 4 Versuche würden also in der That dafür sprechen, dass der Muskel, wenn er längere Zeit sich selbst überlassen bleibt, ohne dass irgendwelche Einflüsse die Säureproduktion hemmen, immer nahezu die gleiche Menge Säure produziert. Was die Quantität der gefundenen Säure betrifft, so erscheint dieselbe im Vergleich zu den von anderer Seite angegebenen Befunden und zu meinen späteren, im Folgenden aufgeführten Resultaten ungewöhnlich hoch. Wie lassen sich nun diese hohen Säurewerte deuten? — Da die Säure selbst weder isoliert noch qualitativ geprüft wurde, so soll durchaus nicht behauptet werden, dass sich lediglich Fleischmilchsäure gebildet habe. Wir wissen, dass der totenstarre Muskel Fleischmilchsäure enthält; ob aber neben dieser bei wochenlangem Aufbewahren des Muskels unter den oben erwähnten Bedingungen nicht auch andere Säuren entstehen, darüber liegen bisher keine Beobachtungen vor. Es wäre denkbar, dass ein Teil der in Wasser gelösten oder suspendierten und durch Kälte vor Fäulnis bewahrten Eiweisskörper des Muskels unter der andauernden Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs sich spaltet und dass aus den stickstofffreien Spaltungsprodukten gewisse Fettsäuren hervorgehen. Für die Fleischmilchsäure ist man geneigt das Glykogen als Muttersubstanz anzusehen. Nun genügt aber der Glykogengehalt des frischen Muskels durchaus nicht, um die gesamte vom toten Muskel produzierte Säuremenge — sei dies nun Fleischmilchsäure allein oder noch andere Säuren — zu decken. Es müssen daher neben dem Glykogen noch andere Muskelbestandteile zur Säurebildung beitragen, und in dieser Beziehung kommen nur die Eiweisskörper in Betracht. Ob deren

freiwilliger, durch Fäulnis nicht gestörter Zerfall in der That Fleischmilchsäure oder irgendwelche andere Fettsäuren entstehen lässt, habe ich selbst experimentell nicht weiter prüfen können; diese Frage wird demnächst von anderer Seite in Angriff genommen werden.

Weiterhin stellte ich eine Reihe von neuen Versuchen mit einzelnen Froschmuskelportionen an, wobei ich von Zeit zu Zeit Phenolphataleinlösung hinzufügte, um möglichst scharfe Reaktionen, d. h. einen deutlich sichtbaren Uebergang der sauren Reaktion in alkalische zu erzielen. Die 12 verschiedenen gewogenen Muskelportionen wurden folgendermassen behandelt:

Frische Muskeln.

I. In Wasser von 100° geworfen und sofort titriert.

II. In Wasser von 47° geworfen und nach 10 Minuten titriert.

III. In Wasser von 100° geworfen und, nachdem sich dasselbe auf 95° abgekühlt hatte, titriert.

IV. In Wasser von 33°
V. In Wasser von 66°
VI. In Wasser von 100°
} geworfen und nach 5 Minuten titriert.

VII. In Wasser von 45° geworfen, bis 56° erwärmt und titriert.

VIII. In Wasser von Zimmertemperatur geworfen und sofort titriert.

XI. In Wasser von 50° geworfen und bis zum starken Kochen erhitzt, sodann titriert.

Starre Muskeln.

X. In Wasser von Zimmertemperatur geworfen und am nächsten Tage titriert.

XI. In Wasser von 100° geworfen und nach 5 Minuten titriert.

XII. In siedendes Wasser geworfen und nach 5 Minuten titriert.

Alle diese zwölf Portionen blieben sodann während eines Zeitraumes von 3 Wochen den Tag über bei Temperaturen von 8—16°, des Nachts bei Temperaturen um 0° sich selbst überlassen und wurden täglich titriert. Das Endresultat bezüglich der Säuremenge war ein ganz verschiedenes, ebenso schwankten die Säuremengen der einzelnen Portionen während der einzelnen Wochen ganz erheblich. Störend wirkte hierbei ganz entschieden die zeitweise ziemlich hohe Lufttemperatur, sofern sie die Fäulnis beför-

derte, die bei den ersten Versuchen durch die dauernd niedrige Temperatur auf ein Minimum herabgesetzt war. Dieser Umstand veranlasste mich, neue Versuche anzustellen und dabei womöglich die Fäulnis der Muskeln zu verhindern oder zu beschränken. Dies suchte ich dadurch zu erreichen, dass ich die einzelnen Muskelportionen in 0,3% Chinolintartratlösung legte. Diese Lösung wurde auf verschiedene Temperaturen erwärmt. — Ferner wurde eine Muskelportion in Alkohol gelegt. — Ich wandte bei meinen Versuchen Froschmuskeln an, um alle Muskelportionen unter gleichen Bedingungen, d. h. in möglichst frischem Zustande zu untersuchen, was bei Kaninchenmuskulatur streng genommen nicht gut möglich ist, da, wenn nach der Tötung des Tieres eine grössere Anzahl von Muskelportionen herausgeschnitten werden, die zuletzt zur Untersuchung kommenden selbst bei sehr raschem Arbeiten schon zu lange an der Luft gelegen haben, um den ersten gegenüber als unverändert gelten zu können. Die Beobachtungsdauer betrug 17 Tage. Am dritten Tage wurden die Muskeln unter der Flüssigkeit mit Hilfe einer Schere klein geschnitten, um einen völligeren Uebertritt der Säure aus denselben in die den Muskel umgebende Flüssigkeit zu erreichen. Die erste Portion war in 20 ccm kalter 0,3% Chinolintartratlösung, welch' letztere zur Neutralisation 2,5 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge brauchte, gelegt worden, die zweite Portion in 45° warmes Chinolin (20 ccm), die dritte Portion in säurefreien Alkohol, die vierte Portion in 20 ccm auf 100° erhitzter Chinolinlösung, die fünfte in 20 ccm kochender Chinolinlösung. Nach 17 Tagen hatte der in kaltes Chinolin gelegte Muskel, wenn die gesamte bei den fortlaufenden Titrationen verbrauchte Natronlauge allein auf Milchsäure angerechnet wird, 2,61 gr Milchsäure (auf 100 gr Muskel bezogen) gebildet, der in 45° warmes Chinolin gelegte 2,41 gr Milchsäure, der in Alkohol 1,74 gr Milchsäure, der in 100° warmes Chinolin gelegte 0,85 gr und der in Chinolin gekochte 2,129 gr Milchsäure. Die Säurebildung war nach Verlauf dieser 17 Tage noch nicht abgeschlossen; ich hielt es aber nicht für geboten, dieselbe noch weiter zu verfolgen, in der Meinung, dass sich in diesem Falle die beträchtlichen Differenzen der Milchsäuremengen der einzelnen Muskelportionen doch nicht ausgleichen würden. Ich musste mir nun sagen, dass die verschiedenen Flüssigkeiten, welche die einzelnen Muskelportionen umgaben, im Verein mit der Temperatur

von wesentlichem Einfluss auf die Säureentwicklung sein mussten, und gerade diese Unterschiede in der Säurebildung bei den einzelnen Muskelportionen veranlassten mich nun genauer die Bedingungen zu studieren, unter welchen die Säurebildung des frischen Muskels erhöht und unter welchen sie herabgedrückt wird. Ausserdem wurde ich durch die zuvor gefundenen Resultate bestimmt, frische und starr werdene Muskeln in dieser Hinsicht mit einander zu vergleichen. Ich behandelte deshalb verschiedene Muskelportionen in derselben Weise, wie die zuletzt erwähnten, indem ich sie verschiedenen Temperaturen auf eine bestimmte Zeit aussetzte und indem ich sie in verschiedene Flüssigkeiten legte, wie Chinolin, Alkohol und destilliertes Wasser. — Aus der genaueren Beobachtung der Säurebildung der Muskeln, aus der Erkenntnis der Bedingungen, unter welchen dieselbe befördert oder verhindert wird, ferner aus dem Vergleich frischer Muskeln mit starren bezüglich der Säureproduktion bei gleicher Behandlungsweise glaubte ich auf das chemische Verhalten der Muttersubstanz der Milchsäure und so auf die erstere selbst schliessen zu können.

Zunächst beobachtete ich die Säurebildung an Muskeln eines Kaninchens, welche 2 Stunden an der Luft nach dem Tode des Tieres gelegen hatten. Sodann nahm ich frische Muskeln. Die Muskelportionen wurden aus den hinteren Extremitäten eines Kaninchens herausgeschnitten. Behandelt wurden die Muskeln beider Gruppen in folgender Weise. Eine Muskelportion von bestimmtem Gewicht legte ich in kalte, die weiteren Portionen in 45°, 70° warme und kochende Chinolinlösung. Ausserdem wurde eine Portion in Alkohol gelegt. Da die Chinolinlösung sauer war, so wurde kurz vor den Versuchen bestimmt, wieviel $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge zu ihrer Neutralisation erforderlich war. Die Kubikzentimeter der dazu verbrauchten Natronlauge mussten abgezogen werden von denjenigen, die zur Neutralisation der Muskelsäure erforderlich waren. Um einen besseren Uebertritt der Milchsäure in die den Muskel umgebende Flüssigkeit zu bewerkstelligen, schnitt ich diese Muskeln ebenfalls an einem der folgenden Tage mit der Schere unter der Flüssigkeit möglichst klein. Beobachtet wurde die Säurebildung während einer Zeit von 6 Tagen. Tabelle III und IV giebt in Kubikzentimetern die verbrauchte Menge von $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge an, und zwar bezogen auf 10 gr Muskulatur.

Tabelle III.

Kaninchenmuskeln der hinteren Extremität 2 Stunden nach dem Tode des Tieres entnommen. Auf Lackmuspapier deutlich sauer.

Tag	10 gr Muskel in 20 ccm kalter Chinolinlösung	10 gr Muskel in Alkohol	10 gr Muskel, 10 Minuten in Chinolinlösung (20 ccm) auf 45° erwärmt	10 gr Muskel, 10 Minuten in Chinolinlösung (20 ccm) auf 70° erwärmt	10 gr Muskel in 20 ccm Chinolinlösung gekocht
1.	2,5+0,075 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	1,025 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	2,5 + 2,0 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	2,5 + 3,2 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	2,5 + 3,5 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH
2.	zerschnitten	zerschnitten	zerschnitten	zerschnitten	zerschnitten
	8,8 ccm „ „	8,3 ccm „ „	8,2 ccm „ „	5,6 ccm „ „	4,4 ccm „ „
3.	2,4 „ „ „	4,8 „ „ „	2,6 „ „ „	0,9 „ „ „	1,8 „ „ „
4.	6,4 „ „ „	8,5 „ „ „	6,4 „ „ „	4,6 „ „ „	4,4 „ „ „
5.	alkalisch	alkalisch	alkalisch	alkalisch	alkalisch
6.	alkalisch	alkalisch	0,8 ccm „ „	alkalisch	alkalisch
Summa	17,67 ccm „ „ = 1,59 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	22,62 ccm „ „ = 2,03 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	20,0 ccm „ „ = 1,8 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	14,3 ccm „ „ = 1,28 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	14,1 ccm „ „ = 1,26 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel

Tabelle IV.

Frische Kaninchenmuskeln.

1.	2,5+0,242 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	2,38 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	2,5+0,181 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	2,5+1,282 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	2,3 ccm bewirken Rötung, während doch die Chinolinl. allein schon 2,5 ccm erforderte.
2.	4,371 ccm „ „	3,58 ccm „ „	5,090 „ „ „	2,051 „ „ „	1,937 ccm nach Abzug v. 0,2 ccm, die z. Neutralis. der Chinolinl. noch fehlten.
3.	2,000 „ „ „ zerschnitten	1,64 „ „ „ zerschnitten	1,8 „ „ „ zerschnitten	1,02 „ „ „ zerschnitten	1,55 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH zerschnitten
	2,000 ccm „ „	3,581 „ „ „	2,54 ccm „ „	1,53 ccm „ „	alkalisch
4.	2,44 „ „ „	2,98 „ „ „	3,63 „ „ „	1,79 „ „ „	alkalisch
5.	0,571 „ „ „	1,791 „ „ „	alkalisch	alkalisch	2,71 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH
6.	0,657 „ „ „	1,044 „ „ „	1,09 ccm „ „	alkalisch	0,678 „ „ „
Summa	12,281 „ „ „ = 1,10 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	16,996 „ „ „ = 1,5 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	14,331 „ „ „ = 1,29 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	7,673 ccm „ „ = 0,69 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	6,875 „ „ „ = 0,61 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel

Vergleicht man die an den einzelnen Tagen gebildeten Säuremengen, so ergeben sich da ganz verschiedene Mengen, aus denen jedoch weitere Schlüsse auf den Verlauf der Säurebildung nicht gezogen werden können. Wie aus Tabelle III ersichtlich, fand ich nach 6 Tagen folgende Resultate: Die grösste gebildete Säuremenge zeigte der in Alkohol befindliche Muskel, 100 gr Muskel hatten nämlich 2,03 gr Milchsäure gebildet; dann folgte der in 45° warme Chinolinlösung gelegte mit 1,8 gr Milchsäure, dann der in kalter Chinolinlösung befindliche mit 1,59 gr, dann der in 70° warme Chinolinlösung gelegte mit 1,28 gr und schliesslich der in Chinolin gekochte mit 1,26 gr Säure. Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, dass Erhitzen über 45° die Spaltung der Muttersubstanz der Milchsäure, nachdem dieselbe spontan infolge des Liegens der Muskulatur an der Luft begonnen hat, beeinträchtigt, und zwar in zunehmender Weise mit zunehmendem Erwärmungsgrade.

Die beiden ersten Kolonnen der Tabelle III mit den Muskelportionen in kaltem Chinolin und in Alkohol scheinen ferner zu zeigen, dass der Spaltungsvorgang bei der Milchsäurebildung in saurer Lösung nicht in der gleich schnellen Weise vor sich geht wie in neutraler, wenn man nicht etwa annehmen will, dass Chinolinlösung und Alkohol auf den chemischen Vorgang einen verschiedenartigen Einfluss ausüben. Landsberger hat in seiner Arbeit gezeigt, dass in alkalischer Flüssigkeit die Säurebildung schneller vor sich geht als in neutraler. Auch aus meinen Versuchen geht dies hervor; in saurer Flüssigkeit ist die Säurebildung entschieden gehemmt.

Anders als die Muskeln der Tabelle III verhalten sich diejenigen der Tabelle IV, die unmittelbar nach dem Tode des betreffenden Tieres zur Untersuchung kamen. Die Addition sämmtlicher während der 6 Beobachtungstage verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge ergaben auf Milchsäure bezogen folgendes Resultat: Am meisten Säure hatte der in Alkohol befindliche Muskel abgegeben, nämlich auf 100 gr frischen Muskel 1,5 gr; dann folgte der in 45° warme Chinolinlösung gelegte mit 1,29 gr Säure, dann der in kalte Chinolinlösung gelegte mit 1,10 gr, dann der in 70° warme Chinolinlösung mit 0,69 gr und schliesslich der in Chinolin ge-

kochte mit 0,61 gr Säure. Vergleicht man die Endresultate von Tabelle III und Tabelle IV, so sieht man, dass nach 6 Tagen die Muskeln der ersten Tabelle, bei denen die Säurebildung, als sie zur Untersuchung kamen, bereits eingeleitet war, sämtlich mehr Säure abgegeben haben, als die Muskeln der Tabelle IV. Der Unterschied in der Säuremenge ist bei allen gleichbehandelten Muskeln der ersten und zweiten Tabelle ein fast gleicher; die Muskeln der ersten Tabelle hatten eben während der 2 Stunden, die sie der Luft ausgesetzt gewesen waren, ein bestimmtes Säurequantum schon gebildet, ehe sie in die betreffenden Flüssigkeiten gelegt wurden, und dieses musste dann beim Endresultat ein Plus an gebildeter Säure gegenüber der Tabelle IV ausmachen. Eine Zusammenstellung weiter unten zeigt, wie die Säuremengen der gleich behandelten Muskeln von Tabelle III und IV differieren, und zwar auf 100 gr Muskel bezogen.

1) Muskeln im kalten Chinolin.
Tabelle III 1,59 gr Milchsäure
Tabelle IV 1,10 gr „
0,49 gr Differenz.

2) Muskeln im Alkohol.
Tabelle III 2,03 gr Milchsäure
Tabelle IV 1,50 gr „
0,53 gr Differenz.

3) Muskeln in 45° warmer Chinolinlösung.
Tabelle III 1,80 gr Milchsäure
Tabelle IV 1,29 gr „
0,51 gr Differenz.

4) Muskeln in 70° warmer Chinolinlösung.
Tabelle III 1,28 gr Milchsäure
Tabelle IV 0,69 gr „
0,59 gr Differenz.

5) Muskeln in Chinolin gekocht.
Tabelle III 1,26 gr Milchsäure
Tabelle IV 0,61 gr „
0,65 gr Differenz.

Im Durchschnitt haben also die Muskeln der ersten Tabelle

in 6 Tagen 0,554 gr Milchsäure mehr gebildet, als die gleich behandelten Muskeln der Tabelle IV.

Im Anschluss an den Durchspülungsversuch von Landsberger habe ich gleichfalls einen solchen Versuch angestellt. Ich will, bevor ich auf die dabei gefundenen Resultate eingehe, kurz die Art und Weise, wie der Versuch angestellt wurde, anführen. Einem Kaninchen wurden in einem Vivisektionsschlitten die Art. iliaca und die Schenkelvene freigelegt und unterbunden; dann wurden dicht hinter den Ligaturen in die peripheren Enden dieser Gefässe feine Glaskanülen eingebunden und die Kanüle der Arterie mittelst eines langen Schlauches an ein mit blutwarmer physiologischer Kochsalzlösung gefülltes Gefäss angeschlossen, das in einer Höhe von ungefähr 2 Metern über dem Operationstisch aufgestellt war. Oeffnete man den am unteren Ende des Schlauches befindlichen Schraubenquetschhahn, so floss die Kochsalzlösung mit dem ihrer Fallhöhe entsprechenden Druck in die Arterie und begann nach einiger Zeit durch die in der Vene befindliche Glaskanüle langsam abzufliessen, zunächst rot, später nur noch schwach, aber doch noch deutlich rötlich gefärbt. So wurde erzielt, dass in dem einen Bein des Kaninchens die Blutzirkulation fortbestand, während sie in dem anderen aufgehoben und durch die Zirkulation der Kochsalzlösung ersetzt war. Da das Kaninchen nach Verlauf von etwa 2 Stunden starb, wurde der Versuch abgebrochen. Die zuletzt aufgefangene Durchspülungsflüssigkeit war noch nicht völlig farblos, sie zeigte vielmehr eine deutliche, wenn auch sehr schwache Rötung und musste so zur Untersuchung genommen werden. Ursprünglich hatte ich die Absicht, erst dann die Flüssigkeit auf ihren Säuregehalt zu prüfen, nachdem sie völlig farblos geworden. Ausser der Durchspülungsflüssigkeit prüfte ich noch die Muskeln der beiden hinteren Extremitäten, der durchspülten und derjenigen, in welcher die Zirkulation fortbestanden hatte, auf ihren Säuregehalt; dieselben kamen 2 Stunden nach dem Tode des Tieres zur Untersuchung.

Zunächst lasse ich Tabelle V über die Muskeln folgen.

In Tabelle V befinden sich die Muskelportionen des durchspülten Beins sowie die des nicht durchspülten. Am 2. Tage der Untersuchung wurden sämtliche Muskeln unter der Flüssigkeit mit der Schere zerkleinert. Unter sich verglichen zeigen die durchspülten Muskeln folgende Eigentümlichkeiten in bezug auf

Tabelle V.

Die verbrauchten Kubikcentimeter $^1/_{10}$ N. NaOH auf 1 gr Muskel bezogen.

A. Muskulatur des durchspülten Beins.

Tag.	5 gr Muskel in Alkohol	5 gr Muskel in destilliertem Wasser	5 gr Muskel in 45° warmem Wasser	5 gr Muskel in Wasser gekocht	5 gr Muskel in kaltem Chinolin (10 ccm)
1.	0,27 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,07 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,13 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,19 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,01 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH
2.	0,32 „ „ „	0,28 „ „ „	0,26 „ „ „	0,12 „ „ „	0,68 „ „ „
3.	0,2 „ „ „	0,18 „ „ „	0,14 „ „ „	0,1 „ „ „	0,3 „ „ „
4.	0,3 „ „ „	0,34 „ „ „	0,28 „ „ „	0,12 „ „ „	alkalisch
5.	0,25 „ „ „	0,1 „ „ „	0,04 „ „ „	0,1 „ „ „	alkalisch
6.	0,18 „ „ „	0,26 „ „ „	0,38 „ „ „	0,23 „ „ „	0,16 „ „ „
Summa	1,52 „ „ „ = 1,368 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	1,23 „ „ „ = 1,107 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	1,23 „ „ „ = 1,107 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	0,86 „ „ „ = 0,774 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	1,15 „ „ „ = 1,035 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel

B. Muskulatur des nicht durchspülten Beins.

1.	0.12 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,14 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,21 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,36 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,01 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH
2.	1.22 „ „ „	0,8 „ „ „	0,84 „ „ „	0,52 „ „ „	0,98 „ „ „
3.	0,46 „ „ „	0,72 „ „ „	0,24 „ „ „	0,16 „ „ „	0,26 „ „ „
4.	0,15 „ „ „	alkalisch	0 06 „ „ „	alkalisch	0,07 „ „ „
5.	0,16 „ „ „	0,1 „ „ „	0,1 „ „ „	alkalisch	0,08 „ „ „
6.	0,26 „ „ „	0,26 „ „ „	0,28 „ „ „	0,22 „ „ „	0,24 „ „ „
Summa	2,37 „ „ „ = 2,133 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	2,02 „ „ „ = 1,818 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	1,73 „ „ „ = 1,557 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	1,26 „ „ „ = 1,188 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel	1,64 „ „ „ = 1,476 gr Milchsäure auf 100 gr Muskel

die Säureabgabe: Am meisten Milchsäure gab an die ihn umgebende Flüssigkeit der Muskel in Alkohol ab, nämlich 1,368 gr; der in destilliertes kaltes Wasser, der in Chinolin und der in 45° warmes Wasser geworfene haben fast gleichviel Säure abgegeben, durchschnittlich 1,083 gr; sämtliche Mengenangaben auf 100 gr Muskel bezogen. Dagegen hat der Muskel, welcher in Wasser gekocht worden war, nur 0,774 gr Säure abgegeben.

Von den nicht durchspülten Muskeln gab ebenfalls der in Alkohol befindliche am meisten Säure ab, nämlich 2,133 gr, dann der in kaltem destilliertem Wasser 1,818 gr, dann der in 45° warmen Wasser 1,557 gr, dann der in Chinolin 1,476 gr und schliesslich der in Wasser gekochte 1,188 gr; sämtliche Werte wiederum auf 100 gr Muskel bezogen. Zunächst ist ersichtlich, dass die durchspülten Muskeln alle weniger Säure geliefert haben, als die nicht durchspülten, was sich ohne weiteres daraus erklärt, dass die Durchspülungsflüssigkeit Stoffe in sich aufgenommen hatte, die, wenn sie in Muskel verblieben wären, sich in ihm in Milchsäure gespalten hätten. Die in den letzten 3 Colonnen der Tabelle V befindlichen durchspülten Muskelportionen weisen gegenüber den nicht durchspülten bezüglich der abgegebenen Säuremenge gleiche Unterschiede auf, nämlich: Muskel A Colonne 3 0,45 gr Säure weniger, als der entsprechende Muskel B, Muskel A Colonne 4 0,414 gr weniger als der entsprechende nicht durchspülte, Muskel A Colonne 5 0,441 gr weniger, als der entsprechende Muskel B, durchschnittlich also 0,435 gr Säure weniger, wobei die Zahlen stets auf 100 gr Muskel bezogen sind. Ferner zeigen die nicht durchspülten Muskeln unter sich verglichen nach 6 Tagen grössere Unterschiede bezüglich der Säuremenge als die Muskeln des durchspülten Beins.

Was die Durchspülungsflüssigkeit angeht, so können die nach 6 Tagen für dieselbe gefundenen Säurewerte keinen Anspruch auf grosse Genauigkeit machen. Durch die schwach rote Farbe der Durchspülungsflüssigkeit wurde die Beobachtung des Farbenüberganges der Phenolphtaleinlösung, wie er sich zeigt, wenn eine farblose saure Flüssigkeit alkalisch gemacht wird, ziemlich unsicher, sodass es äusserst schwer war, beim Titrieren einen Ueberschuss an Natronlauge zu vermeiden. Eins konnte ich aus meinen Versuchen, wie das die Tabelle VI (Colonne 1) zeigt, ersehen, nämlich das, was bereits Landsberger gefunden hatte, dass

Tabelle VI.

Durchspülungsflüssigkeit.

Tag	10 ccm Durchspülungsflüssigkeit nach Zusatz von einigen Tropfen Phenolphtaleinlösung sofort titriert.	10 ccm Durchspülungsflüssigkeit während 5 Minuten auf 45° erhitzt.	10 ccm Durchspülungsflüssigkeit mit 10 ccm Alkohol versetzt.	10 ccm Durchspülungsflüssigkeit 5 Minuten lang gekocht
1.	1 Tropfen $^1/_{10}$ N. NaOH genügt, um eine ganz intensive Rötung hervorzurufen!	0,2 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,4 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,2 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH
2. früh	0,1 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH undeutlich	0,05 „ „ „	0,25 „ „ „	0,25 „ „ „
nachmittags	0,05 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,05 „ „ „	0,1 „ „ „	alkal.
3.	0,1 „ „ „	0,15 „ „ „	0,2 „ „ „	0,2 „ „ „
4.	0,1 „ „ „	0,1 „ „ „	0,2 „ „ „	0,1 „ „ „
5.	0,1 „ „ „	0,2 „ „ „	0,15 „ „ „	0,1 „ „ „
6.	0,125 „ „ „	0,15 „ „ „	0,1 „ „ „	0,2 „ „ „
Summa	0,575 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	0,9 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	1,40 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH	1,05 ccm $^1/_{10}$ H. NaOH

die Durchspülungsflüssigkeit erst nach einiger Zeit sauer wird, dass also, wie Landsberger richtig schliesst, die Kochsalzlösung aus den Muskeln Stoffe ausgewaschen habe, die sich nachher in Milchsäure spalten.

Kurz zusammen gefasst wären die Resultate meiner Arbeit folgende:

1) Es ist wahrscheinlich, dass der lebende ruhende Muskel eine geringe Menge von Milchsäure bezw. sauer reagierenden Substanzen enthält.

2) In einer indifferenten Flüssigkeit, wie destilliertem Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung, bildet der Muskel, sofern die störenden Einflüsse der Fäulnis ausgeschaltet sind, nach einer gewissen Zeit eine bestimmte Menge Säure. Dies ist indessen nur der Fall, wenn die Fäulnis durch die Einwirkung von Kälte auf den Muskel ausgeschlossen wird. Sucht man die Fäulnis durch fäulniswidrige Flüssigkeiten, wie Chinolin, Alkohol u. a. zu verhüten, so wird durch die betreffenden Flüssigkeiten der Spaltungsvorgang selbst in ganz erheblicher Weise beeinträchtigt.

3) Die Säurebildung wird durch Temperaturerhöhung bis zu 45° beschleunigt, durch Temperaturerniedrigung hingegen verlangsamt; Siedehitze unterbricht den Prozess für kurze Zeit, hebt ihn aber nicht auf; ebensowenig wird die Säureproduktion durch Alkohol vernichtet.

4) Nach den Untersuchungen von Nasse[1]) beträgt die Menge des Glykogens in frischen Muskeln von Winterfröschen im Mittel etwa 4,3 ‰ (bezogen auf die feuchte Muskelsubstanz); ferner hat Ranke für frische Froschmuskeln einen mittleren Milchsäuregehalt von 2,4 ‰ gefunden. Wenn nun auch zugegeben werden kann, dass die titrimetrisch bestimmte Muskelsäure nicht allein als Fleischmilchsäure anzusehen ist, sofern ein Teil des bei der Titration verbrauchten Alkalis zur Neutralisation der sauer reagierenden primären Phosphate dient, so sprechen die ermittelten Säurewerte doch gegen die Annahme, das Glykogen sei die Quelle der Muskelsäure. 1 Teil Glykogen vermag rund 2,1 Teile Milchsäure zu bilden: man würde also, ausgehend von den Zahlen von Nasse, etwa 4,7 ‰

1) Nasse: Beiträge zur Physiologie der kontraktilen Substanz. Archiv für Physiologie von Pflüger Bd. II 1869.

Milchsäure im Muskel finden müssen, ein Wert, über welchen die von mir gefundenen Säurewerte weit hinausgehen. Jedenfalls ist hiernach das Glykogen nicht als einzige Muttersubstanz der Fleischmilchsäure im Muskel anzusehen.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr. Rosenthal für die gütige Ueberlassung der vorliegenden Arbeit, sowie Herrn Dr. O. Schulz für die freundliche Anleitung und Unterstützung, welche er mir bei der Anfertigung meiner Arbeit zu teil werden liess, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.